

DROGENSCREENING

Alkoholkonsum – direkte und indirekte Marker

Neben Substanzen, die im Körper durch die Aufnahme, bzw. den Metabolismus von Alkohol direkt entstehen – Blutalkohol (‰), Acetaldehyd, Fettsäureethylester, Ethylsulfat (ETS), Ethylglucuronid (ETG) – werden für ein Monitoring indirekte Marker des Alkoholmißbrauches bestimmt – Gamma-Glutamyl-Transferase (gGT), Alanin-Aminotransferase (GPT), Aspartat-Aminotransferase (GOT), Mittleres Korpuskuläres Erythrozytenvolumen (MCV), Carbohydrat-defizientes Transferrin (CDT).

Ethylglucuronid (ETG) im Urin

Ethylglucuronid (ETG) im Urin ist ein direkter Metabolit von Ethanol, gilt aber auch als indirekter Marker, der kurz zurückliegenden Konsum von Alkohol anzeigt. Ethanol selbst kann im Urin nur wenige Stunden nach Konsum gefunden werden, während ETG (mit Glucuronsäure konjugiertes Ethanol) noch bis zu zirka 80 Stunden nachweisbar ist – abhängig von der aufgenommenen Alkoholmenge und der verwendeten Testmethode. Weitere Einflußgrößen kommen hinzu: Zeitpunkt der Urinabnahme, spezifische Leberenzymaktivität der betreffenden Person, Flüssigkeitsaufnahme / Urinverdünnung. Letzteres wird verifiziert, indem die ETG-Konzentration immer in Relation zur Kreatininkonzentration ausgedrückt wird.

Bei Alkoholabstinenz sind nach zirka 80 Stunden keine nachweisbaren ETG-Urinwerte mehr vorhanden.

In unserem Labor wird zum Screening von ETG im Urin der DRI® Ethyl-Glucuronide Immunoassay (ThermoScientific®) angewendet. Die Nachweisgrenze des Assays liegt bei 15,3 ng/ml. Je nach Fragestellung können verschiedene cut-off-Werte verwendet werden (100, 250, 500 bzw. 1000 ng/ml). Ein positives ETG-Resultat über 100 ng/ml weist auf kürzlich zurückliegenden Alkoholkonsum hin.

Durch in vitro Fermentierung des Urins entstandener Alkohol führt **nicht** zu einem positiven ETG-Ergebnis. Ethanol, der spontan in der Blase oder im Probengefäß, ausgelöst durch Fermentierung im Urin – Zucker (bei Diabetes mellitus) und Hefe oder Bakterien – entsteht wird nicht in ETG umgewandelt, da die Leberpassage fehlt.

Zufälliger Alkoholkonsum in Form von Lebensmitteln (wie z.B. Pralinen, Soßen, Kuchen,...) und unabsichtlicher Alkoholkontakt mit z.B. Mundwasser, alkoholhaltige Handwaschmittel oder Alkoholdämpfe, alkoholhaltige Pflegeprodukte) können sich im Einzelfall als erhöhte ETG-Werte im Urin niederschlagen. Gerade bei forensischen Fragestellungen, die eine absolute Alkoholabstinenz erfordern, sind die Teilnehmer unbedingt darüber aufzuklären, alkoholfreie Produkte anzuwenden (Packungsbeilagen beachten!). Freiverkäufliche Medikamente, die Alkohol enthalten, wie z. B. WickMedinait oder Klosterfrau Melissengeist dürfen nicht verwendet werden.

Mit dem ETG-Nachweis im Urin kann also **nicht** der Ursprung des Alkohols bestimmt werden, ebenso läßt er keine Rückschlüsse zu über die aufgenommene Alkoholmenge.

Ein immunologisch grenzwertiges oder positives Testresultat im Suchtest erfordert die **Bestätigungsanalytik** durch ein alternatives Testverfahren, welches aus derselben Probe durchgeführt werden muss, z. B. mittels GC/MS (Gaschromatographie / Massenspektrometrie).

ETG – Stabilität

Im Urin vorliegendes ETG ist im Unterschied zu Ethanol ausgesprochen stabil (bei RT bis zu 4 Tagen), verdunstet nicht, steigt in vitro durch Fermentierung nicht an, wird bei sehr hohen Temperaturen weder produziert noch eliminiert. Es gilt jedoch die Empfehlung, Proben immer **gekühlt zu lagern** oder **einzufrieren**, um falsch-negative oder falsch-niedrige ETG-Ergebnisse zu vermeiden. Grund hierfür ist die bakterielle Zersetzung von ETG durch vor allem E. coli bei kontaminierten Urinproben.

Carbohydrat-defizientes Transferrin (CDT) im Serum

Konventionelle, indirekte und relativ unspezifische Laborparameter für chronischen Alkoholkonsum sind Gamma-Glutamyl-Transferase (gGT), Alanin-Aminotransferase (GPT), Aspartat-Aminotransferase (GOT) und Mittleres Korpuskuläres Erythrozytenvolumen (MCV).

Das Carbohydrat-defizientes Transferrin (CDT) ist bei fortgesetztem Alkoholgenuss von >40g Ethanol pro Tag an mindestens 7 aufeinanderfolgenden Tagen im Serum erhöht nachweisbar. Bei Abstinenz über 3 Wochen werden wieder CDT-Werte unterhalb der Nachweisgrenze gemessen.

Der CDT-Nachweis gelingt mittels HPLC (High-Performance-Liquid-Chromatographie/Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie). Bei dieser Methode erfolgt die Trennung der verschiedenen Transferrin-Isoformen anhand ihrer verschiedenen isoelektrischen Ladungen. Die CDT-Bestimmung ist in sehr seltenen Fällen bei genetischen Transferrin-Varianten nicht möglich.

CDT-Referenzbereiche: Alkoholabusus unwahrscheinlich bei < 1,64%
 Graubereich zwischen 1,64% und 2,36%
 Alkoholabusus wahrscheinlich bei > 2,36%

Drogennachweis im Urin

Ein Drogenscreening wird entweder bei einer bekannten (z. B. Methadon-Substitutions-Programm) und vermuteten Einnahme von Drogen oder zum Ausschluß von Drogenkonsum durchgeführt. Neben der in der Klinik vorherrschenden Indikation der akuten Intoxikation, stehen im ambulanten Bereich Anwendungsgebiete wie Verkehrsmedizin (Fahrtüchtigkeit), Arbeitsmedizin und Strafvollzug im Vordergrund.

Als Untersuchungsmaterial kommt in erster Linie Urin in Betracht, da die meisten Substanzen, bzw. deren Metabolite im Urin längere Zeit nachweisbar sind und in der Regel in mehrfach konzentrierter Form vorliegen. Immunologische Analysen in Serum oder Plasma sind zudem anfälliger für Kreuzreaktionen. Auch die chromatographische Analyse eines Haarsegmentes – darf maximal 3 cm lang sein – ist möglich.

Präanalytik

Für die Screening- und ggf. Bestätigungsuntersuchung reicht eine Mindestmenge von 30 ml Urin, d. h. eine übermäßige Flüssigkeitsaufnahme vor Urinabgabe ist nicht nötig. Grundsätzlich sollte in den letzten 6 Stunden vor der Urinabgabe nicht mehr als 1 Liter Flüssigkeit aufgenommen werden.

Bei richterlich angeordnetem Urindrogentest erfolgt in der Regel die kontrollierte Urinabgabe unter Aufsicht eines Mitarbeiters direkt im Labor. Der Urinbecher ist namentlich beschriftet und wird unmittelbar nach Urinabgabe vom Labormitarbeiter geschlossen und mit einer Labornummer versehen. Für ggf. erforderliche Bestätigungstests wird ein Teil der Probe eingefroren.

Durch die kontrollierte Urinabgabe wird die absichtliche Probenvertauschung oder Probenverdünnung mit z.B. Fremdurin vermieden. Zudem erfolgt sofort die Kontrolle der physiologischen Urintemperatur (32-37°C), sowie die Beurteilung der Urinfarbe und -trübung. Die ermittelten Analytkonzentrationen werden immer in Relation zur gemessenen Kreatininkonzentration im Urin, bzw. zum Urin pH-Wert ausgedrückt.

Neben der Urinverdünnung als häufigste Manipulationsform, ist der Zusatz von Säuren (Essigsäure), Bleichmitteln (Hypochlorit) oder Flüssigseife (Schaumbildung!) bekannt.

Drogenscreening im Urin

In unserem Labor wird ein kommerzieller qualitativer und semiquantitativer Test basierend auf der KIMS-Methodik (kinetic interaction of microparticles in a solution) zum Screening verwendet.

Die zu erreichenden Bestimmungs- bzw. Nachweisgrenzen und cut-off Werte für die gängigen Mißbrauchsdrogen und deren Metabolite im Urin sind in der Richtlinie der GTFCh (Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie) zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen festgelegt.

Mißbrauchsdrogen und deren Metabolite Cut-off Werte und analytische Nachweisgrenzen

Substanz und Metabolite	Nachweisdauer im Urin	Cut-off Wert [ng/ml]	Analytische Sensitivität [ng/ml]	Bemerkung
Amphetamine Amphetamin Methamphetamin MDMA (3,4-Methylendioxy-methamphetamin) MDA (Methylendioxy-amphetamin) MDEA (Methylendioxy-ethylamphetamin) BDB (Benzodioxazolyl-Butanamin) MBDB (N-Methyl-Benzodioxazolyl-Butanamin)	1-3 Tage	300	100	Elimination abhängig vom pH-Wert des Urins (Urin sauer = rasche Elimination; Urin alkalisch = langsame Elimination) Ecstasy-Tabletten enthalten meist MDMA und MDEA
Opiate - Morphin 6-Monoacetylmorphin (6-MAM) - Codein Dihydrocodein (DHC)	1-4 Tage	100	50	Codein ist kein Metabolit von Morphin. Bei Heroinkonsum (=pharmazeutisch reines Diacetylmorphin) ist kein Codein nachweisbar. Illegale Heroinzubereitungen wiederum enthalten mehr Codein als Morphin; der Nachweis anderer Opiode, wie Buprenorphin, Tilidin, Tramadol oder Fentanyl kann relevant sein

Substanz und Metabolite	Nachweis- dauer im Urin	Cut-off Wert [ng/ml]	Analytische Sensitivität [ng/ml]	Bemerkung
Cocain Benzoylecgonin	1-5 Tage	30	30	„Crack“
Cannabinoide Tetrahydrocannabinol (THC) Tetrahydrocannabinol- Carbonsäure (THC-COOH)	1-3 Tage nach 1x rauchen bis zu 60 Tage bei regel- mäßigem Konsum	30	13	Marihuana „Gras“: Blätter- und Blütenbestän- de der weibl. Pflanze, THC- Gehalt: 0,5-7%, aus Treibhäusern bis zu 20%. Haschisch: Gepresstes Harz der Cannabispflanze, THC- Gehalt: 5-20%, auch 30% möglich
Benzodiazepine Diazepam, Nordiazepam, Oxzepam, Alprazolam, Hydroxy-Alprazolam, Bromazepam, Flunitrazepam, 7-Aminoflunitrazepam Lorazepam	2-5 Tage	100	40	Sedativa Benzodiazepine unter- schieden sich in solche mit kurzer HWZ (1-5h), mittlerer HWZ (5-10h) und langer HWZ (10- 20h), dies ist bei der Bestimmung von Serum- spiegeln relevant.
Methadon 2-Ethylidin-1,5-Dimethyl- 3,3-Diphenylpyrolidin (EDDP)	2-5 Tage	300	100	Methadon ist ein Opioid, das mit dem Opiate- Screening nicht erfasst wird

Bestätigungsanalytik

Ein positives immunologisches Screeningtestergebnis erfordert den Einsatz einer anderen Testmethode zur Bestätigung oder zum Ausschluß des Drogennachweises. In unserem Labor wird die Kombination aus Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC/MS) mit Anwendung interner Standards als Positivkontrolle angewendet. Hiermit gelingt die Identifizierung von Substanzen und/oder deren Metaboliten sowohl entsprechend ihrer molekularen Struktur, als auch ihrer spezifischen Molekülmasse.

Die GC/MS-Methode ist eine vom amerikanischen National Institute of Drug Abuse (NIDA) anerkannte Referenzmethode (confirmatory drug test, Mandatory guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs, USA).

Bei einem positiven Ergebnis im Bestätigungstest ist somit mit hinreichender Sicherheit von einem Drogenkonsum auszugehen.

Eine Ausnahme bilden hier die Cannabinoide, welche bedingt durch die starke Löslichkeit im Fettgewebe gespeichert und noch nach Wochen ausgeschwemmt wird, d.h. auch bei Abstinenz positive Testergebnisse liefern.

Bestimmungsgrenzen für chromatographische, identifizierende Verfahren

Substanzklasse	Analytische Sensitivität [ng/ml]
Amphetamine: Amphetamin, Methamphetamin MDMA, MDA, MDEA, BDB, MBDB	25
Opiate: Morphin, 6-Monoacetylmorphin (6-MAM) Codein, Dihydrocodein (DHC)	15
Cocain: Benzoylcegonin	15
Cannabinoide: Tetrahydrocannabinol (THC) Tetrahydrocannabinol-Carbonsäure (THC-COOH)	5
Methadon: 2-Ethylidin-1,5-Dimethyl-3,3-Diphenylpyrolidin (EDDP)	30
Benzodiazepine	50